

松茸毒蛾质型多角体病毒病的初步研究*

苏星 戴冠群 石木标 仪向东 先炳才

(华南农业大学)

邓常发 易观路

(湛江地区林业科学研究所)

松茸毒蛾 *Dasychira axutha* Collenette 是广东马尾松的另一重要害虫。1980年7月,我们在阳江林场东岸分场的马尾松林中,发现松茸毒蛾幼虫暴发性流行罹病死亡,流行面积达2000余亩。患病死亡之幼虫,有一部分为核多角体病毒所致(苏星等,1983);但在死亡幼虫中有相当一部分虫体萎缩,尾部多粘留一粒灰白色粪便,多掉落在树头周围,这种萎缩型的松茸毒蛾虫尸,经解剖观察,体壁完好、坚韧,中肠呈现乳白色;用中肠作涂片并以苦味酸——氨基黑染色,置光学显微镜观察,发现含有大量的染成深蓝色的多角体,经室内感染试验和电子显微镜观察,证明此病原物为质型多角体病毒。该病毒病在国内尚未见有报道。现将其形态、室内外感染试验及超低容量试验等初步结果报告如下。

一、材料和方法

(一) 材料

松茸毒蛾质型多角体病毒系1980年7月从阳江林场东岸分场采集患病死虫尸而得。

(二) 方法

1. 多角体的分离提纯 将感染10—12天患病幼虫剖腹剪取中肠,加入蒸馏水在研钵中研磨,以四层纱布过滤,再以脱脂棉过滤,滤液用差速离心多次,得粗提纯的多角体,置于4℃冰箱中备用。

2. 多角体及病毒的电镜观察 将粗提纯的多角体经制样后,以碳-黄金旋转投影,JSM-25S扫描电镜观察;多角体以弱碱溶液降解后释放出病毒,取病毒悬液滴加在Formar膜的铜网上,以3%磷酸(pH6.8)负染色,Philips EM-400型电子显微镜观察。

3. 病虫组织超薄切片观察 选取患病未死的幼虫,经解剖取其中肠组织,以4%戊二醛和1%锇酸双重固定,常规法脱水渗透,以618#环氧树脂包埋,LKB超薄切片机切片,厚度约300—350 Å醋酸铀和柠檬酸铅双染色,Philips EM-400型电子显微镜观察。

4. 病毒保存 将罹病死虫放入塑料瓶中,加50%中性甘油,置冰箱中(0℃—4℃)保存3个月、14个月及40个月分别试验其毒力。

5. 感染试验

(1) 室内、外套笼试验 该试验在广东高州县国营荷塘林场进行。将保存了3个月的患病死虫尸磨碎,用血球计算板计算质型多角体的含量,然后将其稀释至所需要的浓度。分室内、外套笼处理。室内套笼试验是将新鲜松针浸入不同浓度的病毒液中,晾干后放进套笼,然后接入试虫,以后每隔3天换新鲜针叶一次,每种处理各重复3次,每天定期观察记录死虫情况;室外套笼在林地进行,先将试虫套在

本文于1984年2月收到。

* 本文电子显微镜照片承本院电镜室协助拍摄;高州荷塘林场冯茂驹、熊惠珍;郁南林业局苏兆洪、林汝芳;桂圩林场郑坤元;阳江林场洪道常参加部分试验工作,特表谢意!

针叶上,然后将不同浓度的病毒液喷在套笼内的针叶及试虫身上,以后每天观察记录死虫情况。

(2) 超低容量喷洒病毒液防治试验 1981 年 4 月在广东郁南县桂圩林场进行。病毒制剂用保存 14 个月的死虫尸粗提纯的多角体,配制成 200 亿 PIB/ml,用 1 毫升病毒液加 150 毫升水,并加入 0.1% 的墨汁,洗衣粉;喷雾机使用红旗 3ME-3 型背负式植保多用机和东方红 18 型背负式机动喷雾机超低容量喷头喷洒。死虫收集后均经镜检。

(3) 毒力持久性试验观察 试验在华南农业大学实验室进行。使用保存 40 个月的死虫尸,剪取中肠加水稍加磨碎、过滤,然后将滤液涂抹在针叶上,让健康的幼虫取食 2 天后,再换上新鲜针叶,继续饲养观察。

二、结 果

(一) 病征 患病幼虫初期表现为食欲减退,烦躁不安,继之行动迟缓,死前虫体萎缩,刚毛竖起,大多数肛门还粘留一粒浅黄色粪便;在野外多见其在树干基部地面死亡,刚死时虫体无臭味,身体明显比同龄健康幼虫萎缩。解剖患病幼虫,中肠部分呈乳白色(苏德明、陈敏琴,1978;蒲蛰龙、庞义等,1982;苏星等,1983)。挑取中肠作涂片镜检,可见大量多角体存在,而其他组织则未见有多角体,患病幼虫体壁坚韧。

(二) 病原体 松茸毒蛾质型多角体在扫描电镜下观察的图像,多呈不规则的多面体,也有呈五边或六边形的。其大小不一,直径为 0.6—2.7 μ m,平均大小为 1.2 μ m(图 1)。经降解释出的病毒粒子为球形,其中可见白圈是外层衣壳(图 2)(蒲蛰龙, 1984; Smith, 1963)。病毒大小为 53.2—59.3nm,平均为 56nm^[3]。(中山大学生物系昆虫专业,1976;苏德明、陈敏琴, 1978; 蒲蛰龙、庞义, 1982; Smith, 1963)。组织切片在透视电镜下观察,可见中肠上皮细胞中有大量的多角体,多角体及其病毒亦仅在细胞质中,病毒粒子在多角体蛋白中呈蜂窝状排列(图 3、4)。

(三) 感染力测定

1. 室内、外套笼试验 结果见表 1、2。(苏星等,1983)。

表 1 松茸毒蛾质型多角体病毒感染力试验(室内套笼)(高州,1980,10)

项 目 (质型多角体/毫升)	供试虫数	12 天总死亡 虫 数	12 天总死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
2.5 $\times 10^9$	63	42	66.7	56.3
1.25 $\times 10^9$	56	31	55.4	41.5
1.25 $\times 10^8$	56	29	51.8	36.7
清水对照	42	10	23.8	—

表 2 松茸毒蛾质型多角体病毒感染力试验(室外套笼)(高州,1980,10)

项 目 (质型多角体/毫升)	供试虫数	12 天总死亡 虫 数	12 天总死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
2.5 $\times 10^9$	20	16	80.0	79.1
1.25 $\times 10^9$	20	11	55.0	53.0
1.25 $\times 10^8$	36	19	52.8	50.7
清水对照	24	1	4.2	—

从表 1、2 看,利用质型多角体病毒防治松茸毒蛾,有较好的防治效果,用 2.5 $\times 10^9$ 质型多角体进行室外套笼试验,12 天后校正死亡率达 79.1%。

2. 超低容量喷洒病毒防治试验 当时主要是进行大面积林间防治,因树高林密,难于统计效果,故

在试区一些标准树上套笼观察。当时幼虫虫龄为 4—5 龄, 每株树平均虫口密度 2—3 条, 每亩用多角体 200 亿, 共喷面积约 400 亩, 套笼观察试虫 55 条, 第 7 天开始死亡, 18 天后幼虫死亡率达 46%, 蛹死亡率达 56.3%, 总死亡率达 76.4%。将所收集的死虫和死蛹经镜检均有病毒多角体。

3. 毒力持久性试验观察 该试验于 1983 年 11 月进行。供试幼虫是从无病毒区采回松茸毒蛾卵块孵化后饲养到 2—4 龄后作试验。幼虫共 40 条, 第 7 天幼龄虫开始死亡, 4 龄虫 13 天后才开始死亡, 一个月内死亡率达 80%。证明经过 40 个月低温保存的病毒虫尸中质型多角体病毒仍有相当高的毒力。

参 考 文 献

- 中山大学生物系昆虫专业电子显微镜室 1976 马尾松毛虫幼虫质型多角体病毒的研究简报。中山大学学报 (自然科学版) 1976(4): 11。
- 苏德明、陈敏琴 1978 棉铃虫 *Heliothes armigera* (Hübner) 质型多角体病毒的研究。复旦大学学报 (1): 74—8。
- 蒲蛰龙、庞义、赖湧流 1982 马尾松毛虫质型多角体病毒(CPV)的研究。昆虫病毒的研究。科学技术文献出版社。
- 苏 星等 1983 松茸毒蛾核多角体病毒病的初步研究, 病毒学集刊, 3: 153—8。
- 蒲蛰龙主编 1984 害虫生物防治原理和方法。科学出版社。240—4 页。
- Smith, K. M. 1963, in "Insect Pathology" Vol. 1, 457—497pp. Academic Press N. Y. and London.

A PRELIMINARY STUDY ON THE CYTOPLASMIC POLYHEDROSIS OF THE PINE TUSsock MOTH, *DASYCHIRA* *AXUTHA COLLENETTE*

SU XING TAI GUAN-QUN SHI MU-BIAO YI XIANG-DONG XIAN BING-CHI
(South China Agricultural University)

DENG CHANG-FA YI GUAN-LU
(Forest Research Institute of Zhanjiang)

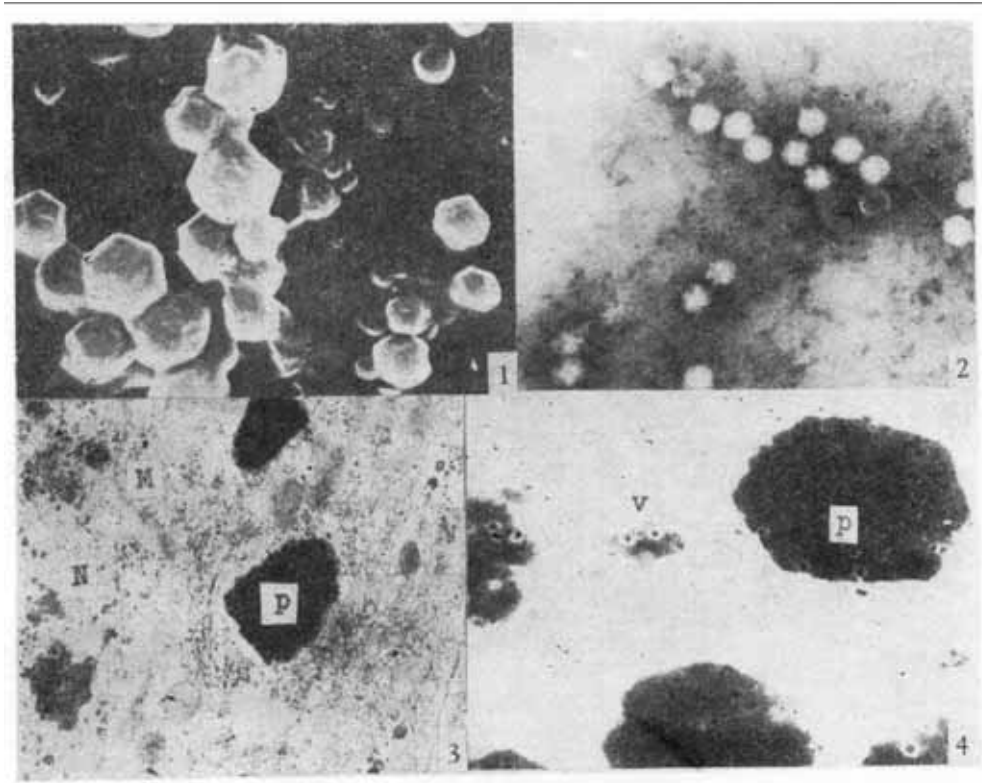


图 1—4 松茸毒蛾质型多角体扫描电镜图像

- 1. 质型多角体 $\times 7,000$
 - 2. 病毒粒子 3% PTA 负染, $\times 7,500$
 - 3. 患病幼虫中肠超薄切片
 - 4. 多角体的超薄切片, 示球状病毒粒子在多角体蛋白中的排列
- N. 中肠上表皮细胞核; M. 核膜; P. 多角体; V. 病毒粒子